



Cartilha

Eletroforese de DNA

Cartilha

Eletroforese de DNA

Reação em cadeia de polimerase (PCR)
e eletroforese de ácidos nucleicos

Pesquisadores: Dr. José Jensen e Dra. Andrea Borrego

Estudantes de pós-graduação em Toxinologia - Instituto Butantan: Queren Apuque Alcantara, Fernanda Narangeira de Araújo, Camila Henrique Pinto, Rita Alexandre Esteves, Valéria Gonçalves de Alvarenga e Gustavo Oliveira Santos

Apoio Pedagógico: Linda Bernardes

Coordenação: Sonia A. de Andrade Chudzinski

Realização: Instituto Butantan

Apoio: CENTD/FAPESP e Fundação Butantan



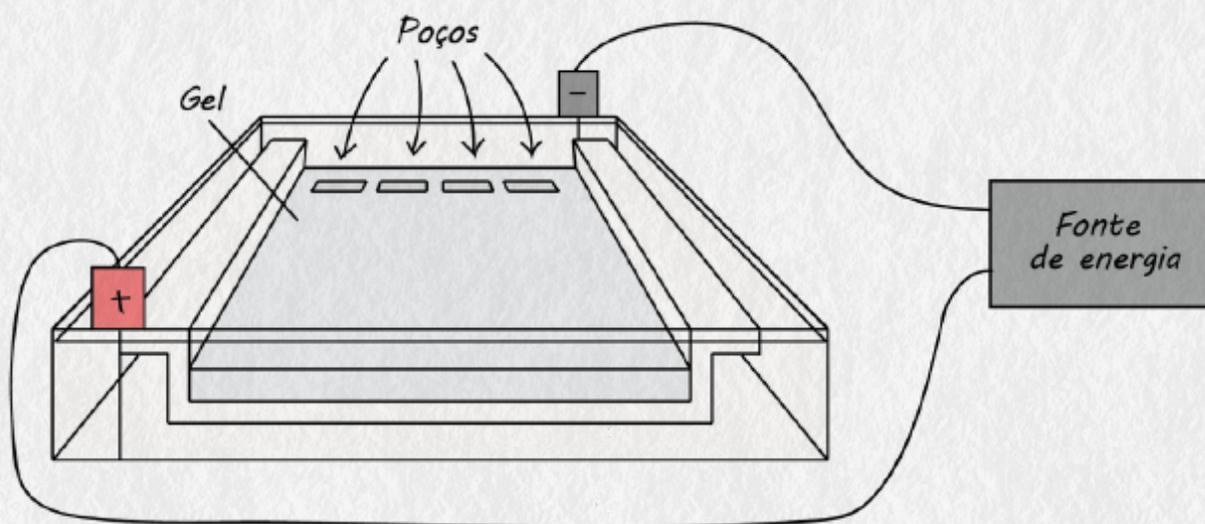
Sumário

- 04** Objetivo da técnica
- 05** Percurso didático
- 06** De onde viemos
- 07** Introdução à eletroforese
- 09** Aplicações no dia a dia
- 10** Vantagens e desvantagens
- 11** Atividades
- 14** Material complementar
- 16** Referências bibliográficas

Objetivo da técnica

O objetivo é de separar fragmentos de DNA, ou outras macromoléculas, por propriedades de tamanho e carga.

No gel, feito de uma substância gelatinosa, denominada agarose, encontram-se pequenos reservatórios em sua extremidade superior.



Esquema demonstra o aparato e o gel de separação. Foto: Khan Academy

As amostras de DNA são aplicadas nesses espaços - poços. O gel, já mergulhado em meio líquido, é submetido a uma diferença de potencial - graças ao uso de um eletrodo negativo na extremidade superior e outro positivo na extremidade inferior.

Desta maneira, forma-se um campo elétrico suficiente para gerar uma força que direciona o movimento das amostras - que estão/são carregadas negativamente - ao longo do gel para a extremidade positiva.

O tamanho dos fragmentos determina a velocidade do seu avanço. Assim, os menores avançam mais rápido do que os maiores. Com isso, ao visualizarmos a altura dos fragmentos ao final da corrida, podemos separá-los de acordo com seu tamanho.

Percurso didático

De onde viemos?

O que é e como funciona uma reação de PCR? E a eletroforese?

Biologia encontra a Físico-química

Quais conhecimentos são necessários? Leia sobre a técnica na introdução

Ações

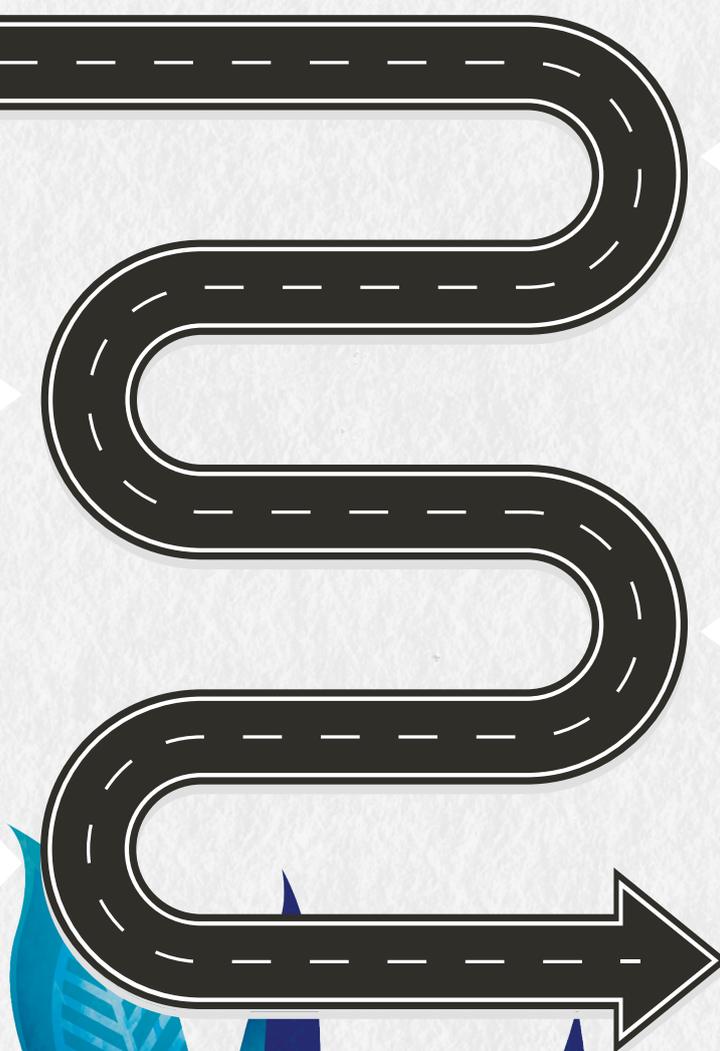
Como fazer a eletroforese? Aprenda um pouco mais por meio do vídeo explicativo

Codificando o conteúdo

Colocando o conhecimento em prática! Explore o conteúdo e os materiais complementares

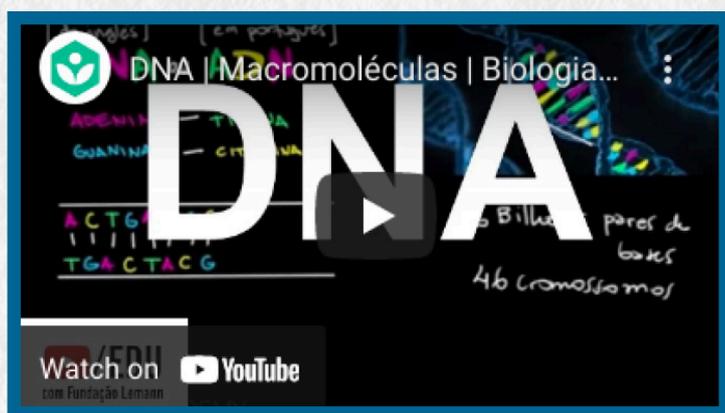
Desafios

Lembre-se de sempre aplicar e construir suas resoluções por meio do método científico!



De onde viemos

Leia os QR Codes com a câmera do celular e confira os vídeos explicativos



O você sabe de ácidos nucleicos?



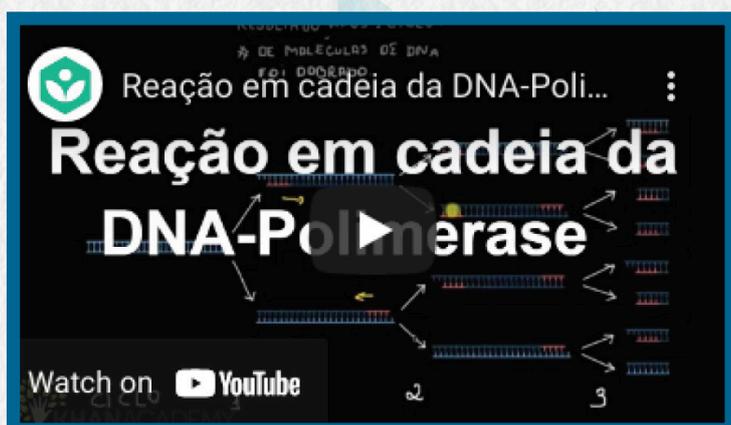
Escaneie o QR code!



Como se multiplicam?



Escaneie o QR code!



E como fazemos para multiplicá-lo no laboratório?



Escaneie o QR code!

Introdução à eletroforese

Na eletroforese em gel, usamos conceitos de campo elétrico para separar fragmentos de DNA de acordo com seu tamanho. As amostras de DNA são carregadas nos poços (cavidades) localizados em uma das extremidades de um gel.

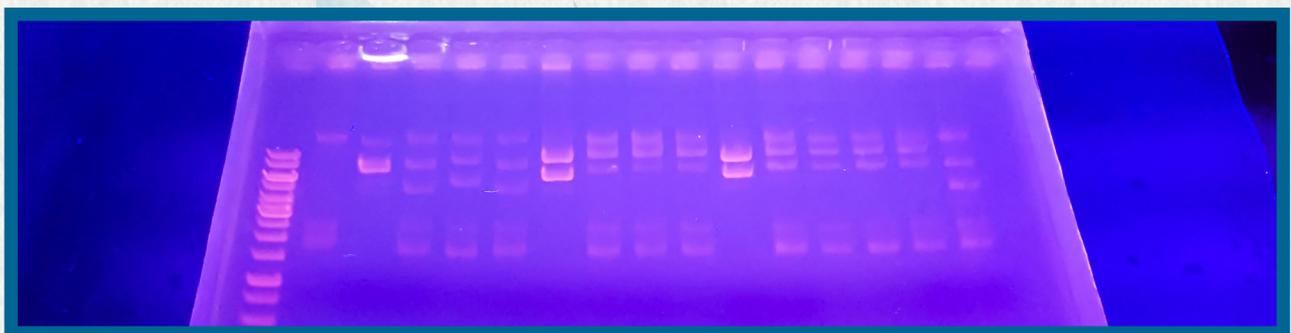


Demonstração de aplicação de amostra nos poços de um gel

Como os fragmentos de DNA são carregados negativamente, ao aplicarmos uma corrente elétrica, os fragmentos movem-se na direção do eletrodo positivo. Já que todos os fragmentos de DNA têm a mesma carga, a massa é o fator determinante na separação. Os fragmentos menores atravessam o gel mais rapidamente do que os maiores.

Como visualizar o DNA no gel?

Quando as amostras entram em contato com um pigmento que se liga ao DNA, e o gel é iluminado com luz UV, pode-se visualizar a altura em que o DNA se posicionou quando a corrente aplicada ao gel foi interrompida. Cada altura é vista como uma banda, que representa um tamanho.



Demonstração de aplicação de amostra nos poços de um gel

Introdução à eletroforese



Um pouquinho de história...

Os fundamentos da eletroforese começaram a ser descritos nos estudos de Michaelis em 1909. Tudo começou quando este cientista percebeu que as proteínas se moviam quando eram submetidas a um campo elétrico, podendo assim ser separadas em frações.

Por anos, alguns cientistas como Sverdberg e Scott (1924), Sverdberg e Tiselius (1926) e Theorell (1935) trabalharam para aperfeiçoar essa técnica. Em 1953, Willians e Grabar utilizaram gel de ágar para separação de proteínas.

Foi publicada a estrutura do DNA por Watson e Crick e em 1970 ocorreu a padronização e industrialização do gel de agarose, permitindo incluí-lo na rotina laboratorial para amostras de sangue, soro, hemolisado e ácidos nucleicos (Oliveira et al., 2015).

Roteiro

Para melhor entendimento, recomendamos este vídeo:



Escaneie
o QR code!

Aplicações no dia a dia



Ciência forense – comparação entre o DNA encontrado no local de um crime com o de possíveis suspeitos

Genética – testes de paternidade, diferenciação de espécies

Microbiologia – detecção de diferentes patógenos

Bioquímica – detecção da expressão de proteínas



Vantagens e desvantagens

Vantagens

- **Baixo custo** para desenvolvimento da técnica
- **Facilidade** de execução
- **Versalidade** de aplicações
- **Precisão** de resultados

Desvantagens

- **Não quantificável** (saber se uma amostra tem mais ou menos DNA que outra)
- **Separa o DNA** pela diferença de tamanho, mas não identifica a sua sequência”

Atividades

Complementares



Desafio



olimpíada
brasileira
de biologia

O que vamos apresentar a seguir é um desafio de resolução de um crime utilizando-se a eletroforese como ferramenta de identificação de suspeitos, mas lembre-se de que esta técnica pode ser utilizada em diversas outras aplicações. O importante é ter em mente que, para a resolução dos desafios, o método científico deve ser seu norteador!

MÉTODO CIENTÍFICO

Qual o percurso das descobertas científicas?

Primeiro, há a **observação** do fenômeno de interesse e coleta sobre o que já foi observado. A partir daí, levantamos questionamentos, com assuntos ainda não explicados. Nessa etapa, pensamos quais são as possíveis respostas para esses **questionamentos**. Essas possíveis respostas são as hipóteses a serem testadas.

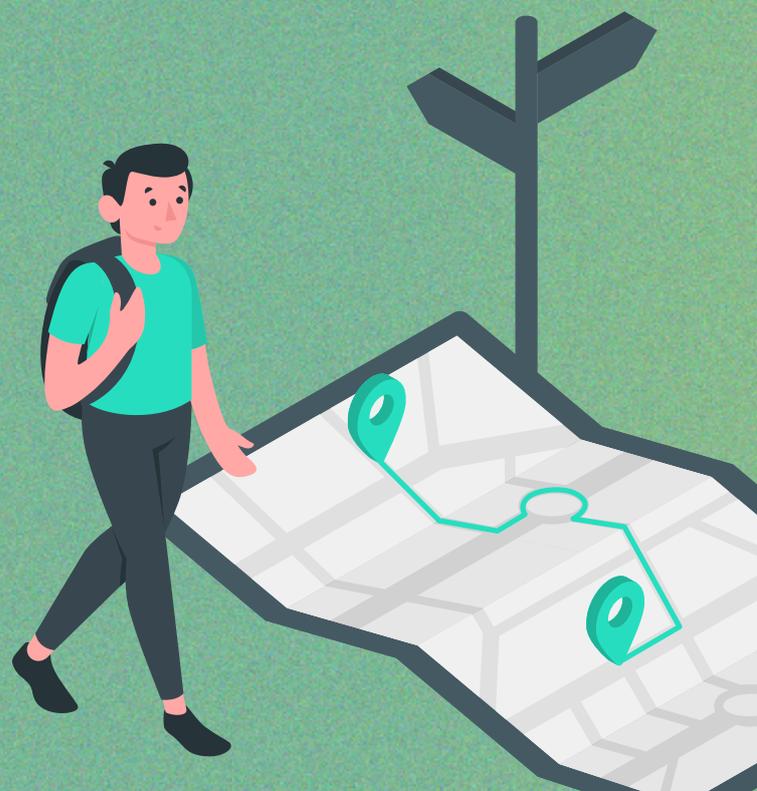
Hipótese é diferente de teoria. Teorias são aqueles conjuntos de hipóteses que já foram validadas pelo método científico.

Experimentação é para responder a hipótese, que é elaborada de forma detalhada para saber se há a validação do que foi pensado e se há vias alternativas para a resposta do questionamento realizado.

Quanto mais qualidade tiver o experimento, mais provável que o estudante obtenha a resposta mais correta.

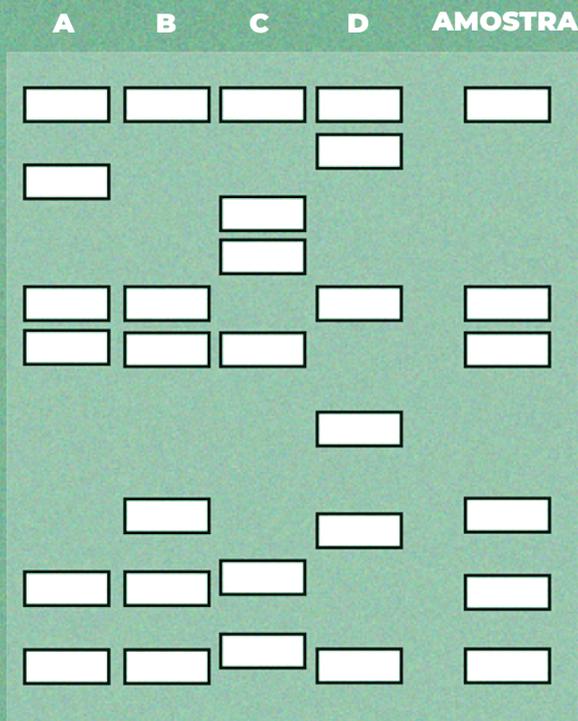
Na **conclusão**, vemos se a hipótese foi validada ou não. Se a hipótese estiver correta, partimos para a **divulgação** dos resultados. Nessa etapa, divulgaremos para o público-alvo. Aqui a sociedade se beneficia.

O trabalho do cientista é realizado de forma sucessiva e contínua (over and over!).



Desafio

A eletroforese de DNA pode ser utilizada em muitas áreas científicas! Pode até ajudar a encontrar o culpado de um crime!



Ao analisar o resultado da eletroforese, quem poderá ser o nosso principal suspeito? Será que algum dos nossos suspeitos poderá ter uma relação familiar com outro suspeito?



Resposta: Suspeito(a) B

Material complementar



Quer saber um pouco mais?

Fontes acadêmicas

Agarose gel electrophoresis

Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1574-695X.2006.00134.x?sid=nlm%3Apubmed>>.

Eletroforese de DNA: Dos Laboratórios de Biologia Molecular para as Salas de Aula

Disponível em: <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc37_4/12-E-EQ-84-13.pdf>.

Electrophoresis of DNA and other polyelectrolytes: Physical mechanisms.

Disponível em <<https://journals.aps.org/rmp/abstract/10.1103/RevModPhys.72.813>>.

Theory of Gel Electrophoresis of DNA

Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bip.360240812>>.

Teste seus conhecimentos

Existem diversos conteúdos online que podem ajudar nessa trajetória, bem como questões das OBBs anteriores!

Disponível em: <<https://olimpiadasdebiologia.butantan.gov.br/provas-egabaritos-e-classificacoes>>

Material complementar



Quer saber um pouco mais?

Fontes escritas

Eletroforese de DNA

Disponível em: <<https://bit.ly/3bq9y2R>>

Biologia molecular e biotecnologia

Disponível em: <<https://bit.ly/3uOcE8v>>

Princípios Básicos de Biologia Molecular

Disponível em: <<https://bit.ly/3bjEzpd>>

Série em biologia celular e molecular: métodos experimentais no estudo de proteínas

Disponível em: <http://www.fiocruz.br/ioc/media/apostila_volume_1.pdf>

Fontes audiovisuais

Reação de PCR - pela Khan Academy

Disponível em: <https://youtu.be/ewt3k_C4JbQ>

Eletroforese em gel - pela Khan Academy

Disponível em: <https://youtu.be/B2KLuzD_suQ>

PPCC Biologia Molecular I: Eletroforese em Gel de Agarose

Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=dLsBVRwpFEE>>

Eletroforese

Disponível em: <<https://www.youtube.com/watch?v=G3nluTRu6xk>>

How to calculate the concentration of agarose gel

Disponível em: <<https://youtu.be/Q1WC0pv7znY>>

Material complementar



Quer saber um pouco mais?

Fontes interativas

Atividade Interativa

Disponível em: <<https://bit.ly/3eISzuT>>

Simulação

Disponível em: <<https://bit.ly/3uOcE8v>>

Laboratório virtual PraxiLabs

Disponível em: <<https://praxilabs.com/>>



Referências bibliográficas



Desenvolvimento de um kit didático de eletroforese para o ensino prático de **Biologia Molecular** na educação básica e superior. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/320342544_Desenvolvimento_de_um_kit_didatico_de_eletroforese_para_o_ensino_pratico_de_Biologia_Molecular_na_educacao_basica_e_superior> (acesso em 25/03/21)

LORETO, E. L. S. e SEPEL, L. M. N. **Atividades Experimentais e Didáticas de Biologia Molecular e Celular**. 2003. 2a Ed., Sociedade Brasileira de Genética. Ribeirão Preto. SP. 81p.

OLIVEIRA E. TRENTIN, TC. CAMARGO, F. PINTO, YDP. MARTINS, DB. **Eletroforese: conceitos e aplicações**. 2015. Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.22; p. 1129-1150.

Créditos

Khan Academy - Eletroforese em gel. Disponível em: <<https://pt.khanacademy.org/science/biology/biotech-dnatechnology/dna-sequencing-pcr-electrophoresis/a/gel-electrophoresis>>

BioTRECO - Material desenvolvido pela Microbiologia da USP, Bio-cientista Mirim e Biolinker. Disponível em: <<https://bit.ly/3vZC1xJ>>





olimpíada
brasileira
de biologia

**Parabéns por
chegar até aqui!**

Agradecemos o seu
interesse na OBB